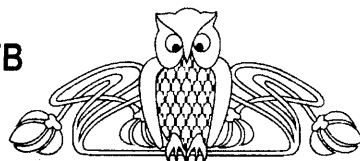


УДК 543.422.3:543.4

## НЕКОТОРЫЕ ПОДХОДЫ К ЭКСТРАКЦИОННО-ФОТОМЕТРИЧЕСКОМУ ОПРЕДЕЛЕНИЮ МЕСТНОАНЕСТЕЗИРУЮЩИХ ВЕЩЕСТВ

Е.М. Адамова, Р.К. Чернова

Саратовский государственный университет,  
кафедра аналитической химии и химической экологии  
E-mail: Chernova RK@info.sgu.ru

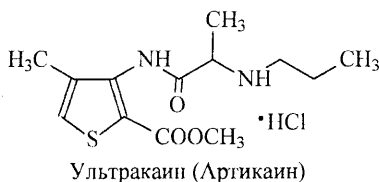


Сформулированы подходы к поиску цветных реакций на некоторые местные анестетики. Исследована реакция взаимодействия лидокаина с метиловым оранжевым. Установлен состав ассоциата и оценена возможность применения данной реакции для экстракционно-фотометрического определения лидокаина.

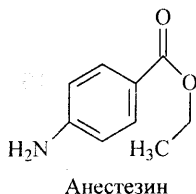
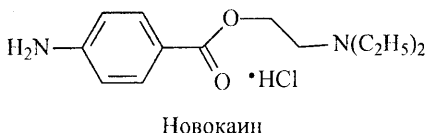
### Some Approaches to Extraction-Photometric Detection of Local Anesthetics Substances

E.M. Adamova, R.K. Chernova

Approaches to search of color reaction on local anesthetics are formulated. Reaction of interaction of lidocaine with methyl orange is investigated. The structure is established and the opportunity of application of the given reaction for extraction-photometric definition of lidocaine is appreciated.



К местноанестезирующим веществам относится группа соединений:



Все они в настоящее время активно применяются в медицинской практике. Механизм действия местных анестезирующих веществ заключается в нарушении электрохимических процессов в нервных волокнах. Накапливаясь внутри клетки, они блокируют прохождение болевого импульса с периферии к ЦНС – отсюда обезболивание.

Фотометрическое определение новокаина и анестезина в биологических средах и лекарственных формах не представляет больших затруднений, так как благодаря наличию первичной аминогруппы эти соединения вступают в реакции конденсации, диазотирования и азосочетания, образуя интенсивно окрашенные продукты реакции.



Наибольшую трудность для определения представляют местноанестезирующие вещества, не содержащие первичной аминогруппы. Фотометрические методы определения для них практически не разработаны. В фармацевтической практике их определяют, как правило, либо титрованием по  $\text{NH}$ -группе в спиртовой среде раствором  $\text{NaOH}$  с тимолфталейном, или титрованием в ДМФА, по образованию комплексных соединений с двухвалентными ионами d-металлов ( $\text{Co (II)}$ ,  $\text{Cu (II)}$ ), нитрованием концентрированной  $\text{HNO}_3$  с последующей обработкой  $\text{KOH}$ .

Такие реакции малоэффективны, так как с их помощью можно количественно определить лишь содержание основного вещества в лекарственных средствах. Для биологических сред и других сложных объектов они не применимы.

Цель настоящего исследования состояла в изыскании реакций других типов, пригодных для фотометрического определения малых концентраций всей группы местноанестезирующих веществ.

В связи с этим нами был сформулирован ряд принципов, положенных в основу поиска новых цветных реакций на указанную группу анестетиков:

1. Рассматриваемые соединения способны протонироваться по азоту аминогруппы, и, следовательно, в кислых средах они находятся преимущественно в виде катионов.

2. Цветные реакции возможны в том случае, если существуют окрашенные (с хорошо выраженной хромофорной системой) анионы, способные образовывать достаточно устойчивые ионные ассоциаты с катионами местных анестетиков (кислые среды).

3. Такие ассоциаты должны быть способны экстрагироваться в фазу органического растворителя, в то время как сам анион не должен обладать такой способностью.

Для реализации указанных принципов нами исследовался ряд специально подобранных хромофорных органических реагентов, содержащих сульфогруппу, способную диссоциировать в достаточно кислых средах [1] и таким образом обеспечивать отрицательный заряд реагенту-противоаниону. Исследованные реагенты приведены в таблице.

Экстракционная способность органических реагентов и их ассоциатов с лидокаином (экстрагент хлороформ,  $\text{pH} = 4,2$ )

| №  | Реагент                  | Экстрагируемость в хлороформ |          |
|----|--------------------------|------------------------------|----------|
|    |                          | реагент                      | ассоциат |
| 1  | Арсеназо I               | —                            | —        |
| 2  | Арсеназо III             | —                            | —        |
| 3  | Бериллон II              | —                            | —        |
| 4  | Бромкрезоловый зелёный   | +                            | +        |
| 5  | Бромкрезоловый пурпурный | +                            | +        |
| 6  | Бромпирогаловый красный  | —                            | —        |
| 7  | Индигокармин             | +                            | +        |
| 8  | Нитрозо-R-соль           | —                            | +        |
| 9  | Стильбазо                | —                            | —        |
| 10 | Хромазурол S             | +                            | +        |
| 11 | Цинкон                   | +                            | +        |
| 12 | Бромфеноловый синий      | —                            | +        |
| 13 | Метилловый оранжевый     | —                            | +        |
| 14 | Тропеолин O              | +                            | +        |
| 15 | Тропеолин OO             | +                            | +        |
| 16 | Тропеолин OOO            | +                            | +        |
| 17 | Эриохром чёрный T        | +                            | +        |

Примечание. «+» — экстрагируется в хлороформ, «—» — не экстрагируется в хлороформ.

#### Экспериментальная часть

При выполнении работы были использованы следующие реагенты и их растворы:

1. 2% ( $7 \cdot 10^{-2}$  М) раствор лидокаина медицинского назначения (исходный раствор). Рабочий раствор с концентрацией  $7 \cdot 10^{-3}$  М готовили последовательным разбавлением исходного раствора в день использования.

2. Бромфеноловый синий (ч.д.а.) (концентрация рабочего раствора  $4 \cdot 10^{-3}$  М).

3. Метилловый оранжевый (МО) (ч.д.а.) (концентрация рабочего раствора  $9 \cdot 10^{-3}$  М).

4. Тропеолин O (ч.д.а.) (концентрация рабочего раствора  $10 \cdot 10^{-3}$  М).

5. Тропеолин OO (ч.д.а.) (концентрация рабочего раствора  $8 \cdot 10^{-3}$  М).

6. Тропеолин OOO (ч.д.а.) (концентрация рабочего раствора  $8 \cdot 10^{-3}$  М).

7. Эриохром чёрный T (ч.д.а.) (концентрация рабочего раствора  $6 \cdot 10^{-3}$  М).

8. Реагенты, представленные в таблице с №1–12, — индикаторы.

9. Хлорид калия (х.ч.) (концентрация рабочего раствора 0,5 М).

10. Сульфат калия (х.ч.) (концентрация рабочего раствора 0,5 М).

11. Нитрат калия (х.ч.) (концентрация рабочего раствора 0,5 М).

12. Буфер ацетатный. Буферные растворы готовили согласно [2].

Примечание: Все используемые в данной работе растворы водные.

#### Аппаратура

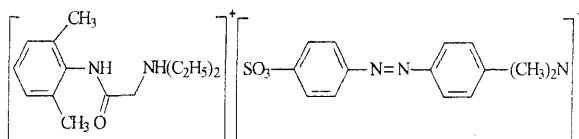
Электронные спектры поглощения снимали на спектрофотометре СФ-26. Значения рН измеряли на рН-метре/ милливольтметре рН-121 со стеклянным электродом.

Электрофореграммы снимали на бумажном носителе ( $t = 60$  мин,  $U = 500$  В).

Как видно из таблицы, вышеперечисленным требованиям соответствуют бромфеноловый синий (БФС), метиловый оранжевый (МО).

Дальнейшие исследования проводились в системе *лидокаин – метиловый оранжевый – хлороформ*.

Установлено, что при рН = 4,2 метиловый оранжевый в хлороформ не экстрагируется, однако в присутствии протонированного лидокаина наблюдается экстракция ассоциата метилового оранжевого с лидокаином в хлороформ:



Для доказательства формы существования МО в кислых средах проводились электрофоретические исследования. Было установлено, что при рН > 3 происходит диссоциация сульфогруппы, и метиловый оранжевый существует в форме аниона [1].

Для нахождения оптимального значения рН образования ионного ассоциата нами исследовалась зависимость оптической плотности ассоциата А от рН ацетатного буферного раствора (рис. 1).

Как видно, значение оптической плотности экстракта практически не изменяется в интервале рН = 4,0–4,6. Уменьшение оптической плотности при рН < 4 может быть связано с отсутствием диссоциации сульфогруппы МО, а уменьшение оптической плотности при рН > 4,6 – с уменьшением содержания протонированной формы лидокаина.

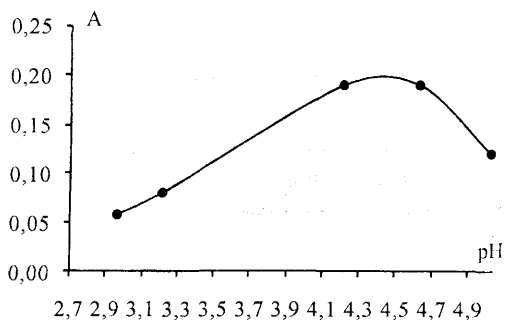


Рис.1. Зависимость оптической плотности экстракта от рН ацетатного буферного раствора

В связи с этим оптимальным было выбрано значение рН = 4,2 (МО диссоциирован [1], лидокаин протонирован, рКа = 7,8 [3]).

Как указывалось, МО растворим в воде, но не растворим в хлороформе, а ассоциат его с лидокаином растворим в хлороформе.

Методом изолярических серий [4] в хлороформном экстракте было установлено молярное соотношение компонентов в ионном ассоциате. Для этого исследовали стехиометрические соотношения компонентов С (лидокаин) : С (метиловый оранжевый) = 4:1, 3:1, 2:1, 1:1, 1:2, 1:3, 1:4. Полученные значения оптической плотности, измеренные при  $\lambda = 430$  нм, представлены на рис. 2.

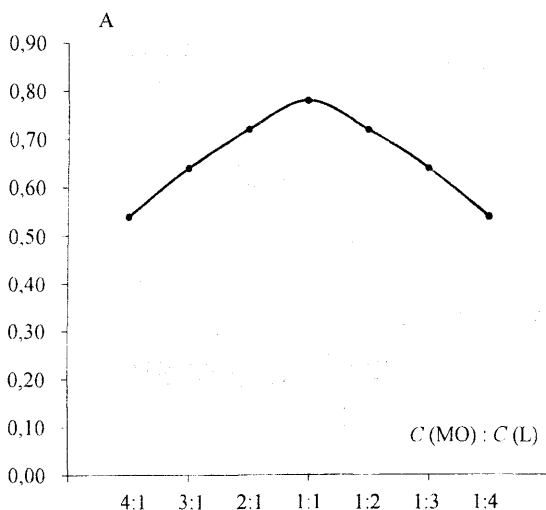


Рис.2. Молярное соотношение компонентов в ассоциате МО с лидокаином

Кратность экстрагирования ассоциата равна 3, так как после трёхкратной экстракции оптическая плотность ассоциата не изменяется (общий объём хлороформа 15 мл).



Исследовалось также влияние электролитов ( $KCl$ ,  $KNO_3$ ) на экстракцию ионного ассоциата в хлороформ – «эффект высаливания». Оптическая плотность экстракта возрастает при добавлении электролита. Наибольшее высаливающее действие оказывает  $KNO_3$  при оптимальном добавляемом объёме 0,5 мл. Добавление  $KCl$  уменьшает оптическую плотность экстракта, так как подавляет диссоциацию лидокаина.

Для прикладных целей важен интервал линейной зависимости концентрации лидокаина от величины оптической плотности ассоциата. Для построения градуировочной зависимости смешивали 5 мл раствора лидокаина с 5 мл ацетатного буферного раствора ( $pH = 4,2$ ), добавляли 4 мл раствора метилового оранжевого и экстрагировали хлороформом 3 раза по 5 мл. Жёлтые экстракты переносили в колбу на 25,0 мл и разбавляли хлороформом до метки. Экстракты фотометрировали при  $\lambda_{max} = 430$  нм. Полученная зависимость представлена на рис.3.

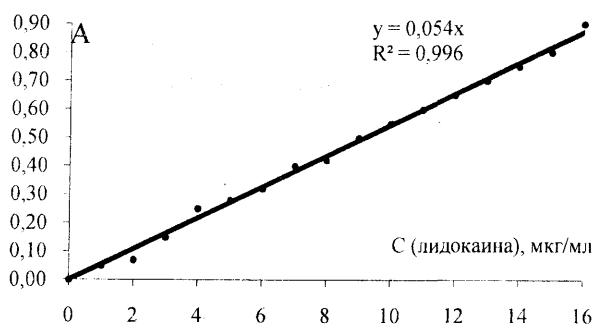


Рис.3. Градуировочная зависимость для определения концентрации лидокаина

Нижняя граница определяемых содержаний составляет 4,0 мкг/мл.

#### Выводы

Сформулированы принципы поиска цветных реакций на лидокаин как на представитель местных анестетиков, не содержащих первичной аминогруппы.

Найден путь подбора экстракционно-фотометрических реагентов на лидокаин; исследована модельная реакция взаимодействия лидокаина с метиловым оранжевым.

Установлено молярное соотношение компонентов в ионном ассоциате – 1:1.

Получена линейная зависимость оптической плотности ассоциата от концентрации лидокаина в экстракте (мкг/мл). Нижняя граница определяемых содержаний составляет 4,0 мкг/мл.

#### Библиографический список

1. Невердаускене З.П., Раманаускас Э.П. Константы диссоциации сульфогруппы трифенилметановых красителей: Науч. тр. вузов Литовской ССР // Химия и химическая технология. 1973. Т.15. С.23–27.
2. Рабинович В.А., Хавин З.Я. Краткий химический справочник. Л.: Химик, 1978. С.247–253.
3. Граник В.Г. Лекарства. Фармакологический, биохимический и химический аспекты. М.: Вузовская книга, 2001. С.194–195.
4. Булатов М.И., Калинин И.П. Практическое руководство по фотоколориметрическим и спектрофотометрическим методам анализа. 3-е изд., испр. и доп. Л.: Химия, 1972. С.228–229.